



**FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE RONDÔNIA – UNIR
CAMPUS DE PRESIDENTE MÉDICI
CURSO DE ENGENHARIA DE PESCA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE PESCA**

TÂNIA OLINDA LIMA

**Uso do eugenol na indução anestésica de tambaquis (*Colossoma
macropomum*, CUVIER, 1818) em diferentes dosagens e temperaturas**

**Presidente Médici
2014**

TÂNIA OLINDA LIMA

Uso do eugenol na indução anestésica de tambaquis (*Colossoma macropomum*, CUVIER, 1818) em diferentes dosagens e temperaturas

Monografia apresentada ao Departamento de Engenharia de Pesca, Fundação Universidade Federal de Rondônia, *Campus* de Presidente Médici, como parte dos requisitos para obtenção do título de Engenharia de Pesca.

Orientador (a): Prof^a. Dr^a. Jucilene Cavali

Presidente Médici
2014

Dados de Publicação Internacional na Publicação (CIP)
Biblioteca Setorial 07/UNIR

L732u

Lima, Tânia Olinda.

Uso do eugenol na indução anestésica de tambaquis (*Colossoma macropomum*, CUVIER, 1818) em diferentes dosagens e temperaturas/ Tânia Olinda Lima. Presidente Médici – RO, 2014.

53f. ; + 1 CD-ROM

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Jucilene Cavali

Monografia (Engenharia de Pesca) Fundação Universidade Federal de Rondônia. Departamento de Engenharia de Pesca, Presidente Médici, 2014.

1. Anestesia. 2. Eugenol. 3. Tambaqui. 4. Tempo. I. Fundação Universidade Federal de Rondônia. II. Cavali, Jucilene. III. Título.

CDU: 639

Bibliotecário-Documentalista: Jonatan Cândido, CRB15/732



**FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE RONDÔNIA – UNIR
CAMPUS DE PRESIDENTE MÉDICI
CURSO DE ENGENHARIA DE PESCA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE PESCA**

TÂNIA OLINDA LIMA

Uso do eugenol na indução anestésica de tambaquis (*Colossoma macropomum*, CUVIER, 1818) em diferentes dosagens e temperaturas

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi aprovado pela banca examinadora do curso de Graduação em Engenharia de Pesca constituída pelos seguintes docentes:

Prof.^a Dr^a. Jucilene Cavali (Orientadora)
Orientadora

Prof.^o Dr.^o Marlos Oliveira Porto

Prof.^o Dr.^o Fernando do Carmo Silva

Aprovado em: Presidente Médici - RO, 30 de julho de 2014.

DEDICATÓRIA

Ao Meu pai Lazaro Lopes Lima e minha mãe Antônia Elivanda Teixeira Olinda que nunca mediram esforços para que continuasse a estudar, também ao meu irmão Thiago Olinda Lima, assim como todos os familiares pelo carinho e apoio.

AGRADECIMENTOS

A minha orientadora Prof.^a Dr.^a Jucilene Cavali, pelo empenho, incentivo e pelas horas dedicadas a mim e a este trabalho demonstrando toda a paciência e zelo, assim como ao Prof. Dr. Marlos Oliveira Porto.

Em nome da Professora Fernanda Bay Hurtado e do Técnico Mario Lima, agradeço a todos os professores e técnicos da Faculdade de Engenharia de Pesca pela dedicação ao ensino que transcendem os restritos limites da informação técnica.

A todos os colegas e amigos que ajudaram e participaram na execução deste trabalho, em especial a Iara Silva Vieira.

Aos colegas de curso e amigos pelo suporte e companheirismo ao longo destes anos de convívio, principalmente, a Ana Paula da Silva Bertão, Daniela Lemes da Costa e Rafaela Lemes da Costa.

Assim como aos pescadores (as) e piscicultores do Estado de Rondônia que contribuíram de maneira significativa em minha vida, de modo que permitiram uma troca de conhecimentos e saberes que jamais esquecerei, pois nestes anos ao lado deles me fizeram ver o quanto esta classe é importante e poucos a valorizam.

Também aos professores Me. Josenildo de Souza e Silva, Dr.^a. Eliane Silva Leite e Me. Clodoaldo de Oliveira Freitas que me ensinaram a verdadeira essência da vida acadêmica, profissional e pessoal.

“Ninguém sabe tudo, assim como ninguém ignora tudo. O saber começa com a consciência do saber pouco. É sabendo que sabe pouco que uma pessoa se prepara para saber mais. Portanto, o diálogo é o encontro amoroso dos homens que mediatizados pelo mundo, o “pronunciam”, isto é, o transformam, e transformando-o, o humanizam para a humanização de todos”.

(Freire, 2006)

RESUMO

A criação de peixes representa uma opção com baixo custo de implantação e elevada rentabilidade para agricultores familiares, o que a torna uma excelente oportunidade para melhoria das condições de vida dessa parcela da população tão significativa para o país, sendo fundamental ressaltar que para alcançar uma produção satisfatória são necessários muito empenho e dedicação, com frequentes atualizações por parte dos criadores, já que cada grupo de espécies apresenta peculiaridades quanto ao manejo e reprodução (PACHECO, 2009). Por isso, o objetivo da pesquisa foi avaliar a ação anestesia profunda e recuperação anestésica em duas diferentes concentrações de eugenol (26,5 e 53,0 mg L⁻¹) e duas temperaturas de água (27 e 31°C) no período (minutos) para o início da anestesia profunda e término da indução em tambaquis (*Colossoma macropomum*), visando mensurar a concentração ideal para anestesia utilizando o eugenol e verificar a influência da temperatura no efeito anestésico. Foram utilizados 20 peixes com peso médio de 982 gramas, em quatro repetições de 5 peixes por tratamento (aquário), onde foram individualmente anestesiados, observando o comportamento por temperatura e concentração. Os resultados obtidos mostraram que no período decorrido entre a anestesia profunda (00:40 segundos) e recuperação (02:35 minutos) dos peixes tiveram influencia altamente significativa ($P < 0,05$) da temperatura 31°C, além da concentração do eugenol. Este trabalho sugere que o tempo decorrido até a anestesia profunda do tambaqui e a recuperação não ultrapasse o período recomendado por Marking e Meyer (1985), sendo que a anestesia profunda deve levar de um a três minutos, e a recuperação não deve ultrapassar cinco minutos. A dosagem 26,5mg L⁻¹ a 31°C apresentou-se como mais recomendada ao manejo de rotina nas pisciculturas pela eficiência aos sinais de anestesia profunda, pois é semelhante a de 53 mg L⁻¹ a 31°C, reduzindo o custo do produtor, todavia, esta dosagem dependerá diretamente da temperatura da água.

Palavras-chave: Anestesia. Eugenol. Tambaqui. Tempo.

RESUMEN

La piscicultura es una opción con un bajo costo de implementación y alta rentabilidad para los agricultores, lo que hace que sea una excelente oportunidad para mejorar las condiciones de vida de esta parte tan importante de la población para el país, y es fundamental hacer hincapié en que para lograr una producción satisfactoria se requiere mucho compromiso y dedicación, con actualizaciones frecuentes por parte de los creadores, ya que cada grupo de especies tiene peculiaridades en cuanto al manejo y reproducción (Pacheco, 2009). Por lo tanto, el objetivo de la investigación fue evaluar la acción profunda anestesia y la recuperación sala en dos concentraciones diferentes de eugenol (26,5 y 53,0 miligramos por litro) y dos temperaturas del agua (27 y 31 grados centígrados) durante el periodo (minutos) para el comienzo y final de la inducción de anestesia profunda en tambaquis (*Colossoma macropomum*), para medir la concentración óptima para la anestesia utilizando eugenol y la influencia de la temperatura sobre el efecto anestésico. 20 peces con un peso promedio de 982 gramos se utilizaron en cuatro réplicas de cinco peces por tratamiento (acuario), los cuales fueron anestesiados de forma individual mediante la observación del comportamiento de la temperatura y la concentración. Los resultados mostraron que en el período entre la anestesia profunda (doce y cuarenta segundos) y la recuperación (02:35 minutos) pescado tenía influencia altamente significativa ($P < 0.05$) la temperatura de 31 grados centígrados, además de la concentración de eugenol . Este trabajo sugiere que el tiempo transcurrido hasta que el tambaqui anestesia profunda y la recuperación no exceda el período recomendado por Marcado y Meyer (1985), y la anestesia profunda debería tomar uno a tres minutos, y la recuperación no debe exceder los cinco minutos . Las dosis de 26,5 miligramos por litro a 31 grados Celsius se presentó como la eficiencia manejo rutinario más recomendados por las granjas de peces en busca de signos de anestesia profunda, ya que es similar a 53 miligramos por litro a 31 ° C, lo que reduce el coste del fabricante, sin embargo, esta dosis dependerá directamente de la temperatura del agua.

Palabras-clave: Anestesia. Eugenol. Tambaqui. Tiempo.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	REFERENCIAL TEÓRICO	13
2.1	Contexto da piscicultura	13
2.2	Espécie	15
2.3	Temperatura.....	16
2.4	Uso do Eugenol na piscicultura	18
2.5	Outros anestésicos utilizados.....	19
2.6	Estresse	23
3	OBJETIVOS	25
3.2	Geral	25
3.3	Específicos.....	25
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	26
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
6	CONCLUSÕES	41
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	42
8	APÊNDICE	50

1 INTRODUÇÃO

Atualmente a piscicultura voltada à produção de peixes com escamas no Brasil é de 611.343 toneladas, estando, portanto entre os 15 primeiros produtores de pescado cultivado de acordo com a Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura – FAO (2014).

De modo que a piscicultura continental representa 82,3% da produção total nacional, gerando um PIB pesqueiro de R\$ 5 bilhões, mobilizando 800 mil profissionais entre pescadores e aquicultores e proporciona 3,5 milhões de empregos diretos e indiretos, o potencial brasileiro é enorme e o país pode se tornar um dos maiores produtores mundiais de pescado, de acordo com o Ministério da Pesca e Aquicultura – MPA (2012).

A piscicultura é realizada considerando a biologia das espécies criadas (hábitos reprodutivo, alimentar, fases de vida, entre outros), bem como o sistema de produção possível de ser praticado no local, conforme as características mercadológicas de cada região (PACHECO, 2009).

Neste contexto o manejo é imprescindível para o sucesso do setor. Todavia, práticas rotineiras e necessárias da piscicultura, como biometria, análise patológica, implante hormonal, ou seja, todos os procedimentos que envolvem a manipulação direta dos animais são predisponentes de problemas e frequentemente expõem os peixes a uma variedade de fatores estressantes que têm o potencial de afetar seu desempenho e sanidade (GOMES, 2001).

De modo que o conhecimento e execução de métodos nestas atividades minimiza a interferência nas funções vitais e fisiológicas dos peixes o que é de primaz importância na redução de problemas e melhora nas condições de bem estar animal, de maneira que o estresse de captura experimentado pelos animais repercute diretamente na sanidade animal na medida em que traumas, perdas de escamas, formação de feridas e morte podem ser comuns imediatamente ao ato de captura e transporte da espécie piscícola.

Bizarro (2011) menciona ainda que há possibilidade de problemas relacionados com a diminuição ou retirada de fatores de proteções como o muco cutâneo e perda de escamas pela abrasão provocada pela agitação e/ou manipulação dos animais tanto quanto pela diminuição drástica do sistema imune, desencadeado pelos hormônios do estresse, portanto os anestésicos

entram como importante instrumento de auxílio na piscicultura na execução de tais técnicas de forma o menos traumática possível, o que reduz de maneira significativa as perdas, melhorando o bem estar animal.

Substâncias anestésicas são frequentemente utilizadas para reduzir a hipermotilidade¹, facilitando o trabalho com os animais, além de reduzir o estresse causado pela manipulação dos peixes (INOUE, 2003). Portanto o uso de anestésicos auxilia na diminuição do estresse, à medida que reduzem a atividade e o metabolismo dos peixes, reduz injúrias físicas, consumo de oxigênio, excreção de metabólicos tóxicos e grande economia de oxigênio (OLIVEIRA, 1999).

No processo de produção e/ou o transporte de peixes os mesmos são afetados por uma série de agentes ou fatores estressantes, como captura, superpopulação, mudanças bruscas de temperatura, manuseio, barulho excessivo e o próprio transporte, o que gera significativas perdas em produtividade e qualidade do produto final proveniente do pescado (GROTTUM, 1997).

O sucesso do transporte consiste em conter a maior densidade de peixes no menor volume de água possível, sem que haja mortalidade, deterioração da qualidade da água e estresse dos animais, daí a importância no uso de anestésicos que minorem estes efeitos nocivos da manipulação dos peixes (MOYLE e CECHE, 1988; ROSS, 2009).

¹ Aumento exagerado da atividade motora.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Contexto da piscicultura

A criação de peixes, ou piscicultura, por sua vez, é uma atividade pecuária e zootécnica das mais antigas, praticada por povos milenares, como os chineses, bem antes de Cristo, relatos evidenciam que os povos do antigo Egito já desenvolviam criações de peixes desde o ano 2.500 a.C., no Brasil, entretanto, a prática comercial da piscicultura só ocorreu no início do século XX e vem se desenvolvendo cada vez mais, por possuir mão-de-obra abundante e uma crescente demanda por pescado segundo o Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial – INMETRO (2011).

A criação de peixes representa uma opção com baixo custo de implantação e elevada rentabilidade para agricultores familiares, o que a torna uma excelente oportunidade para melhoria das condições de vida dessa parcela da população tão significativa para o país, sendo fundamental ressaltar que para alcançar uma produção satisfatória é necessário muito empenho e dedicação, com frequentes atualizações por parte dos criadores, já que cada grupo de espécies apresenta peculiaridades quanto ao manejo e reprodução (PACHECO, 2009).

Lazzari [20--] afirma que a qualidade da água de cultivo é elemento essencial em uma piscicultura, representa não só a condição para sobrevivência como também um meio para o desenvolvimento de alimento natural dos peixes, se a criação for conduzida em tanques escavados, sistemas de alto fluxo ou em tanques-rede deve-se considerar a qualidade da água como forma de otimizar os índices de produtividade.

Portanto, a utilização de água de boa qualidade com temperatura adequada aliada ao uso de substâncias com ação sedativa ou anestésica auxilia na diminuição do estresse, à medida que reduz a atividade e o metabolismo dos peixes, minimiza injúrias físicas, excreção de metabólitos tóxicos e grande economia de oxigênio (OLIVEIRA, 1999).

Nos sistemas intensivos de piscicultura, os animais passam por diversas situações estressantes, além das altas densidades utilizadas durante a criação, alguns procedimentos rotineiros são fontes de estresse para os peixes, entre

esses: biometria, transporte, reprodução induzida e coleta de ovos, como consequências, podem ocorrer desde perda do apetite e peso, redução no crescimento, aparecimento de doenças ou a morte dos animais (BARCELLOS et al., 2000).

A utilização de anestésicos, durante o manejo, pode aliviar a maioria das reações de estresse (ROSS : ROSS, 2008), além de reduzir a motilidade e facilitar o manejo dos peixes (INOUE et al., 2005).

A escolha do anestésico deve nortear-se pelos princípios de ter ação reversível; não deve ser irritantes aos tecidos; deve ter seu início de ação rápido e ter duração suficiente a técnica adotada; proporcionar grau reduzido de toxicidade; deve apresentar potencial suficiente para anestésiar; biocompatibilidade e boas propriedades de penetração a biofase; não desencadear reações alérgicas; ser estável em soluções e sofrer biotransformação rápida no organismo; e estar estéril ou capaz de ser esterilizado sem deterioração (ROSS : ROSS, 2009).

Produtos químicos, como a tricáína metanossulfato (MS-222), o sulfato de quinaldina, a benzocaína e o fenoxietanol são comumente utilizados como anestésicos em peixes para tentar diminuir o estresse. No entanto, efeitos adversos podem ser observados, como perda de muco, irritação das brânquias e danos na córnea. A anestesia de peixes pode ser afetada por fatores biológicos, tais como as diferenças entre as espécies (formato do corpo, tamanho da área branquial) e intraespécies, que são as diferenças de tamanho, variações na taxa metabólica e quantidade de gordura corporal (ROUBACH, 2001).

Segundo Ross e Ross (2008), os estágios de anestesia descritos na literatura (tabela 1) são classificados de acordo com os graus de perda de equilíbrio e alterações na frequência dos batimentos operculares, dessa forma, a determinação do intervalo de tempo adequado para que os peixes atinjam determinados estágios de anestesia é de fundamental importância para o correto planejamento do manejo de peixes.

Tabela 1 – Descrição dos estágios anestésicos e dos comportamentos, em peixes.

Estágio de anestesia	Descrição do comportamento
Sedação leve	Perda de reação aos movimentos visuais e ao toque.
Anestesia leve	Perda parcial do equilíbrio.
Anestesia profunda	Perda total do equilíbrio.
Anestesia cirúrgica I	Diminuição dos movimentos operculares.
Anestesia cirúrgica II	Mínimo movimento opercular, o peixe fica estático.
Colapso medular	Overdose (dose em excesso) ou tempo excessivo de anestesia.
Recuperação	Recuperação do equilíbrio e natação normal.

Fonte: Ross e Ross, 2008.

O procedimento anestésico muitas vezes indispensável nos sistemas de piscicultura deve ser realizado de forma mais eficiente possível, tanto do ponto de vista biológico como econômico (ROUBACH, 2001).

2.2 Espécie

O tambaqui *Colossoma macropomum* (CUVIER, 1818) é um peixe de piracema nativo das bacias dos rios Amazonas e Orinoco (Figura 1), amplamente distribuído na parte tropical da América do Sul e na Amazônia Central (ARAÚJO-LIMA et al., 2005). Segundo Kubitza (2004) é o segundo maior peixe de escamas do Brasil, e é a principal espécie da Amazônia cultivada no país.

Figura 1 – Tambaqui (*Colossoma macropomum*) (CUVIER, 1818).



Fonte: Google imagens, 2014.

Em situação de hipóxia, apresenta adaptações comportamentais e fisiológicas para suportar a adversidade como: aumento da respiração e batimento cardíaco, aumento da afinidade da hemoglobina pelo oxigênio, redução do metabolismo e baixa taxa de crescimento (GOMES et al., 2006; VAL et al. 1995). Possui hábito alimentar onívoro com tendência a herbívoro, filtrador e frugívoro (NUNES et al, 2006).

De acordo com Borghetti et al. (2008), o tambaqui é o principal peixe criado na região amazônica, principalmente pela fácil obtenção de juvenis, bom potencial de crescimento, alta produtividade e rusticidade no manejo, de modo que a criação de tambaqui em regime semi-intensivo vem crescendo no Norte do Brasil.

Todavia, durante o transporte e manejo, mostram comportamento bastante agitado, o que provocam machucados e perda de escamas, doenças e mortalidade em decorrência dessas práticas comuns na aquicultura (KUBTIZA, 1997).

Conforme Souza et al. (1998), a produção de tambaqui pode chegar a 10 toneladas por hectare ao ano, em cativeiro, esta espécie apresenta bom crescimento, sendo adequada tanto para criações em sistema semi-intensivo, como para sistema intensivo ou mesmo tanque-rede, a espécie não necessita de rações com teores de proteína muito elevados, podendo trabalhar com rações contendo 28% de proteína bruta na fase de terminação.

2.3 Temperatura

O tambaqui é um peixe de área tropical, vive em locais onde as temperaturas médias mensais variam de 25 a 27°C, apesar de não ser muito exigente em relação à qualidade da água, esta não deve ter pH superior a 7,2, assim como a temperatura nos meses mais frios não deve ser inferior a 18°C, caso contrário, pode ocorrer mortalidade dos peixes devido ao ataque de bactérias e fungos, a temperatura ideal para o cultivo do tambaqui está na faixa de 26 a 32°C (MENDONÇA, 2007).

Kubitza (2009), afirma que a redução na temperatura da água usada no transporte é fundamental para a segurança, a eficiência e o sucesso do transporte. A baixa temperatura reduz o metabolismo dos peixes, diminuindo o

consumo de oxigênio e a excreção de gás carbônico e amônia. Além disso, retarda o desenvolvimento de bactérias na água. Isso permite transportar cargas maiores de peixes a distâncias mais longas. E durante o transporte a temperatura da água deve ser mantida entre 19 e 22°C para peixes tropicais. Temperaturas mais baixas, entre 16 e 18°C podem ser utilizadas para o transporte de espécies de peixes de clima temperado. Peixes de águas frias, como as trutas, por exemplo, geralmente são transportados a temperaturas entre 8 e 15°C.

De modo que a temperatura da água é um dos fatores mais importantes nos fenômenos químicos e biológicos existentes em um viveiro, todas as atividades fisiológicas dos peixes (respiração, digestão, reprodução, alimentação, entre outros) estão intimamente ligadas à temperatura da água (OLIVEIRA, 1995).

Baldisserotto (2002) menciona que os peixes ajustam sua temperatura corporal de acordo com a temperatura da água, ou seja, cada espécie tem uma temperatura na qual melhor se adapta e se desenvolve, sendo essa temperatura chamada de temperatura ótima.

Por isso as temperaturas acima ou abaixo do ótimo influenciam de forma a reduzir seu crescimento, em caso de temperaturas extremas, podem acontecer mortalidades, além do que o metabolismo dos peixes é maior à medida que aumenta a temperatura (SILVA et al., 20--).

A temperatura é a principal variável abiótica que afeta o metabolismo dos peixes e de outros animais ectotérmicos, a temperatura tem um efeito pronunciado nos processos químicos, de uma maneira geral, a velocidade das reações químicas dobra ou triplica para cada 10°C de aumento na temperatura, a redução da temperatura na água de transporte reduz o metabolismo dos peixes e, conseqüentemente, reduz a taxa de consumo de oxigênio e de excreção de amônia e gás carbônico (KUBTIZA, 2003).

2.4 Uso do Eugenol na piscicultura

Uma vez estabelecida à necessidade de controle ou ao menos a mitigação dos efeitos do estresse no organismo dos peixes, os anestésicos e sedativos são uma boa alternativa. Para cada anestésico existe uma concentração diferente de acordo com o estágio de sedação a ser alcançado, que vai desde uma sedação leve até uma sedação profunda. A escolha de um anestésico esta relacionada com o preço, disponibilidade no mercado, eficiência, finalidade de uso e o destino do animal após a aplicação do fármaco (MELLO, 2010).

Na década de 1930, reportou-se pela primeira vez a possibilidade de utilização de produtos contendo eugenol para anestesia de peixes (HOSKONEN et al., 2004).

O óleo de cravo é uma substância fenólica obtida da destilação das folhas, caules e flores do cravo-da-índia *Syzygium aromaticum*, sendo que o eugenol é o principal componente (70 a 95%) do óleo de cravo, tendo como princípio ativo o (4-alil-2-metoxifenol), considerado seguro para humanos, animais e ambiente (MAZZAFERA, 2003).

É utilizado como flavorizante na indústria alimentícia e como agente analgésico, antibacteriano, antifúngico, de baixo custo, facilidade de manejo e é amparado por uma diversidade de trabalhos que atestam a segurança no uso do Eugenol para anestesia de peixes de forma segura e eficaz em diversas concentrações (TAYLOR et al., 1999) e possui boa capacidade em reduzir respostas metabólicas ao estresse (SMALL, 2003). Além disso, seu desempenho é melhor que de outras substâncias já utilizadas (WAGNER et al., 2003).

Os estudos sobre a utilização do eugenol como anestésico na piscicultura surgiram da necessidade de se encontrar novas substâncias eficazes, seguras e de baixo custo, podendo ser utilizado na água através da imersão dos peixes (ROUBACH et al., 2005) e por aspersão da solução direto nas brânquias (HONCZARYK et al., 2009). O eugenol é seguro para os animais, para o manipulador e para o meio ambiente (IVERSEN, 2003).

Alguns estudos já relatam o êxito em utilizar o eugenol como anestésico para matrinxã *Brycon cephalus* (INOUE, 2003), tambaqui *Colossoma*

macropomum (ROUBACH et al., 2005), pintado *Pseudoplatystoma corruscans* (VIDAL et al., 2006), jundiá *Rhamdia quelen* (CUNHA, 2006) e robalo-flecha *Centropomus undecimalis* (SOUZA-JUNIOR et al., 2006), como a capacidade da substância em reduzir o estresse de transporte e manuseio (CUNHA et al., 2006; INOUE et al., 2005).

Segundo Vidal et al. (2006) o eugenol não demonstra efeitos deletérios aparentes no peixe após a sua utilização, de acordo com Kildea et al. (2004) apresenta rápida excreção. Para Wagner et al. (2002), o eugenol é metabolizado e excretado rapidamente no organismo animal, não requerendo tempo de carência para abate.

2.5 Outros anestésicos utilizados

A anestesia, em estações de pisciculturas, é utilizada para facilitar o manejo, evitar a possibilidade de ferimentos e, possivelmente, reduzir o estresse dos peixes (BOLASINA, 2006; SMALL, 2003).

O uso de anestésicos no manejo de peixes foi iniciado com indígenas americanos, que colocavam rotenona *Derris elliptica* para sedar e capturar os peixes na natureza (SEDGEWICK, 1986). A anestesia geral em peixes foi descrita inicialmente por Mc Farland em 1960 (BROWN, 1988).

Os anestésicos são agentes químicos ou físicos com o objetivo de anestésiar um animal o que causa perda de mobilidade, equilíbrio, consciência e finalmente, das reações reflexas por evitarem o início e a condução do impulso nervoso ocasiona a perda completa ou parcial dos sentidos corporais devido à diminuição das funções nervosas (IWAMA et al., 1994) e cardiorrespiratórias. Isso tem demonstrado ajudar na redução dos impactos do estresse das espécies de peixes em sistemas de piscicultura (PIRHONEN et al., 2003).

A redução do metabolismo, do estímulo visual, do consumo de oxigênio e excreção de amônia nos peixes são algumas das vantagens da utilização desses produtos químicos, de modo que a anestesia e a sedação são consideradas instrumentos valiosos na piscicultura (ROSS : ROSS, 2008).

O conhecimento de métodos que permitam intervenções nas funções vitais e fisiológicas dos peixes é importante para evitar que ocorra mortalidade

durante o transporte ou manejo. Dentre os métodos utilizados para minimizar o estresse dos danos físicos e facilitar o manuseio, destaca-se o uso de anestésicos (CUNHA, 2007).

O anestésico entra no sistema circulatório do animal através das brânquias e da pele do peixe, bloqueando os reflexos, porém, é pelas brânquias a principal rota de entrada e de ventilação branquial, por isso, qualquer fator que afete esta ventilação, como a temperatura, por exemplo, pode comprometer o efeito do anestésico e também a eliminação de seus resíduos (DELBON, 2006).

Existem vários tipos de anestésicos utilizados em peixes durante o manejo e o transporte dos animais, dentre vários estudos têm demonstrado o efeito positivo dos anestésicos no manejo de muitas espécies de peixes (CARMICHAEL et al., 1988). Por outro lado, vários outros estudos apontam os efeitos negativos do anestésico, como: estresse, mortalidade ou sua ineficiência (TAYLOR et al., 1999).

O efeito dos anestésicos como redutor de estresse em peixes é controverso, uma vez que respostas ao estresse do próprio anestésico têm sido observadas em peixes expostos ao MS-222, óleo de cravo, metomidato, benzocaína, gás carbônico e fenoxietanol (IVERSEN et al., 2003; PIRHONEN et al., 2003; TORT et al., 2002; WAGNER et al., 2003).

Diferentes anestésicos têm sido utilizados na piscicultura e avaliados suas aplicações (ROSS : ROSS, 1999), a recuperação dos peixes (HILL et al., 2004) e o efeito sobre o desempenho da natação do peixe após a anestesia (ANDERSON et al., 1997). Algumas substâncias químicas, como a benzocaína (etil para-aminobenzoato), o MS-222 (tricaína metano sulfonato), a quinaldina (2-4-metilquinolina) e o fenoxietanol (2-fenoxietanol) podem ser utilizadas como anestésicos para peixes (SEDGWICK, 1986). Porém, com exceção da benzocaína, estes anestésicos são de difícil obtenção, apresentam alto custo e efeitos adversos, como irritabilidade nos animais e efeitos deletérios nos manuseadores (ROUBACH et al., 2001).

A quinaldina, por exemplo, tem sido amplamente utilizada na piscicultura, porém tem sido associada com anormalidades da tireóide em humanos e camundongos (CLARK, 1990), além do animal que está sendo sedado não perder completamente as respostas reflexas (TYTLER, 1981). A

maioria destes anestésicos cumprem os critérios básicos para eficácia e segurança (MARKING et al., 1985). Dependendo do país, alguns destes compostos não são aprovados para uso em peixes, por apresentarem riscos de segurança para o usuário (BERNSTEIN et al., 1997).

Anestésicos extraídos de plantas, como o óleo de cravo (eugenol) e o mentol, também podem ser utilizados em procedimentos anestésicos com segurança e eficácia (INOUE, 2003; HOSKONEN et al., 2004; STEHLY et al., 1999; WOODY et al., 2002). Outros produtos químicos como o dióxido de carbono (CO₂) (BOWSER, 2001), bicarbonato de sódio (NaHCO₃) (ALTUN et al., 2009), cetamina (BRUECKER et al., 1993), clorobutanol (MARKING, 1987), sulfato de quinaldina e metomidato são usados como anestésicos. O choque elétrico também pode induzir à anestesia, assim como a hipotermia.

Tradicionalmente, os produtos químicos como o uretano, éter e clorofórmio foram utilizados para anestesia em peixes, no entanto, estas substâncias são agora limitadas devido à presença de agentes cancerígenos. Estes anestésicos causam indesejáveis efeitos colaterais, têm baixa margem de segurança e sua utilização tem sido limitada ou rejeitada (MARKING e MEYER, 1985).

O anestésico Aqui-STM também vem sendo utilizado na anestesia de peixes. Este produto contém 50% de isoeugenol (2-metoxi-4-propenylphenol) e 50% de polissorbato 80 (IVERSEN et al., 2003), sendo considerado uma substância segura. A eficácia do anestésico pode ser dependente de inúmeros fatores (OLSEN et al., 1995; STEHLY, 1999), como a qualidade da água na qual se realiza o procedimento de anestesia e posterior recuperação (GIMBO et al., 2008).

A escolha do anestésico geralmente está relacionada com a viabilidade econômica, com as considerações legais (PIRHONEN et al., 2002), a disponibilidade, a praticidade no uso, a impossibilidade de causar risco à saúde do consumidor, a ação rápida sem complicações posteriores para o peixe, a capacidade de redução de estresse do peixe, não deixar resíduos no pescado, a natureza do experimento e a espécie de peixe a ser tratada (MUNDAY et al., 1997).

No Brasil não existem leis específicas regularizando o uso de anestésicos. Assim, são geralmente seguidas as recomendações do FDA (US

FDA, 1978). O único anestésico aprovado por este órgão é o MS-222, cujo valor comercial é dez vezes maior que o similar, a benzocaína (GOMES, 2001). A benzocaína tem a vantagem de ser uma solução neutra, causa menos agitação e irritação aos peixes do que o MS-222 (ROUBACH et al., 2001).

Anestésicos como o MS-222 e a quinaldina podem induzir problemas olfatórios em peixes (LOSEY et al., 1994). Além disso, o MS-222 é considerado um produto cancerígeno (PIRHONEN et al., 2003). O MS-222 é o anestésico para peixes mais usado em todo mundo.

Comercialmente é vendido com o nome fantasia de Fiquel®, comercializado nos EUA (ROUBACH : GOMES, 2001). A utilização desse anestésico é limitada nos Estados Unidos, e os peixes só podem ser disponíveis para consumo humano 21 dias após serem expostos a esse fármaco (MEINERTZ et al., 2006). Na Nova Zelândia, para o MS-222 são necessários dez dias de depuração e não existe período específico para a benzocaína (ROSS : ROSS, 2008).

Entre os anestésicos naturais produzidos no Brasil, encontramos o óleo de cravo e o mentol. O uso de óleos essenciais como anestésicos para peixes pode ser uma alternativa viável perante o alto custo e dificuldades de obtenção dos produtos químicos (FAÇANHA e GOMES, 2005).

A maioria dos anestésicos é administrada na água, entretanto podem ser injetados (BOWSER, 2001) ou aplicados diretamente nas brânquias do peixe (ROSS : ROSS, 2008). Em todos os casos, o fármaco deve ser solúvel em água. Entretanto, alguns são primeiramente dissolvidos em um solvente orgânico para depois serem diluídos em água (BOWSER, 2001). Deve-se tomar cuidado com a aplicação destes anestésicos na água, pois os peixes são muito sensíveis às variações do pH, temperatura e conteúdo mineral da água (ROSS : ROSS, 1999).

Os anestésicos quando usados extensamente podem causar perda de muco, irritação da brânquia, danos na córnea (INOUE, 2003), redução da proteção do peixe contra patógenos oportunistas e aumento da resposta ao estresse, abrindo caminho para infecções por fungos e bactérias (CARNEIRO et al., 2001).

Nos últimos anos, a anestesia e a analgesia dos peixes foram o foco de debates a respeito da necessidade e das técnicas de aplicação e avaliação

fisiológica (CHANDROO et al., 2004; ROSE, 2002; SNEDDON, 2004). Diferentes estudos têm revelado, de fato, significativos resultados de que os peixes podem sentir dor, medo e estresse com influências sobre o metabolismo geral (CHANDROO et al., 2004; DUNLOP e LAMING, 2005; SNEDDON, 2004). Isso torna o uso de anestésico indispensável, devido à legislação, que visa reduzir ao mínimo qualquer dor, sofrimento ou estresse imposto aos animais (SCHNAIDER e SOUZA, 2003).

Como cada anestésico exige uma concentração diferente para induzir o estágio anestésico desejado, é necessário testar várias concentrações (GOMES : ROUBACH, 2001), pois algumas espécies são mais sensíveis, podendo não tolerar algumas doses recomendadas (ROSS et al., 1993). Quanto maior a concentração utilizada, menor o tempo para indução à anestesia, havendo uma relação inversa entre esse tempo e a recuperação (PARK et al., 2008). O anestésico deve ser eficaz em baixas concentrações e apresentar toxicidade em doses muito superiores às recomendadas, proporcionando uma grande margem de segurança (ROSS : ROSS, 2008).

Utilizar a concentração correta do anestésico é importante para evitar o desperdício ou a morte do animal por excesso do produto. A utilização de quantidade excessiva de anestésicos pode promover alterações metabólicas detectadas somente horas após a exposição, ou ainda a morte dos peixes (PARK et al., 2008). A necessidade da descoberta de novos anestésicos que ofereçam custos reduzidos e segurança para os peixes tem estimulado pesquisas com novos produtos anestésicos (GUÉNETTE et al., 2007a), sendo necessários estudos com anestésicos alternativos (IVERSEN et al., 2003; SLADKY et al., 2001; WAGNER et al., 2002;).

2.6 Estresse

O ambiente aquático é extremamente dinâmico com mudanças rápidas ou extremas na concentração de O₂ dissolvido, no pH e na temperatura. Os animais que vivem nesse ambiente enfrentam essas e outras alterações, que podem ocasionar estresse e reduzir a habilidade na manutenção da homeostase. Assim, destacam-se como agentes estressores de natureza química, como por exemplo, variação da concentração de O₂ dissolvido;

concentração elevada de amônia e nitrito, decorrente da degradação da matéria orgânica (COSTA et al., 2004); presença de poluentes orgânicos e inorgânicos (CARVALHO : FERNANDES, 2006; JORGENSEN et al., 2002;);

Os de natureza física, como manuseio, alta densidade populacional, confinamento, captura ou transporte (URBINATI et al., 2004); e redução do nível de água dos corpos d'água, caracterizados pelos períodos de estiagem em regiões tropicais e subtropicais (CADAVID GARCIA, 1984). Os fatores estressantes têm sido a principal causa das perdas de lucros na piscicultura, pois afetam o metabolismo e, conseqüentemente, o crescimento dos peixes (TAVARES-DIAS, 2009).

Os peixes são facilmente estressados durante o manejo e o transporte, o simples contato dos animais com o ar atmosférico durante a biometria é suficiente para desencadear o estresse (BARCELLOS, SOUZA, WOEHL, 2000). Dentre os vários agentes estressores na piscicultura destacam-se: o manejo, o confinamento, altas densidades e a captura (VIDAL et al., 2008).

As respostas do estresse são manifestadas em cascata, onde a resposta primária ativa a secundária que por sua vez ativa a terciária. Assim sendo, as práticas de manejo adotadas devem ser realizadas com cuidado, de forma a minimizar o estresse e conseqüentemente diminuir as perdas e os riscos de mortalidade (VIDAL et al., 2008).

O estresse fisiológico segue com o desencadeamento da Síndrome de Adaptação Geral (SAG), dividida em três respostas: primária, secundária e terciária (Moyle : Cech, 1998). A resposta neuroendócrina, ou primária, é caracterizada por um significativo aumento dos hormônios corticosteroides (cortisol) e da concentração de catecolaminas (adrenalina e noradrenalina), que estimulam a hidrólise das reservas de glicogênio no fígado, aumentando os níveis de glicose no sangue, diminuição da proteína muscular, aumento do batimento cardíaco, marcando o início da resposta secundária.

Os corticosteróides estimulam um aumento da permeabilidade da membrana celular. A resposta terciária é marcada pela diminuição da resistência dos peixes às doenças, pois ocorre uma diminuição no número de leucócitos, ocorrendo linfocitopenia (diminuição do número de linfócitos) e neutrofilia (aumento do número de neutrófilos circulantes) de acordo com Mazeuud et al. (1977).

3 OBJETIVOS

3.2 Geral

Avaliar o comportamento do tambaqui ao efeito anestésico em diferentes doses do eugenol e temperaturas da água.

3.3 Específicos

- Testar diferentes doses do eugenol para anestesia do tambaqui;
- Verificar a influência da temperatura da água na anestesia;

4 MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi realizada no Laboratório de Pesca e Aquicultura - LPA do Departamento de Engenharia de Pesca da Universidade Federal de Rondônia, sendo feitos os ensaios no mês de Fevereiro de 2014.

Foram utilizados 20 juvenis de tambaqui com peso médio de 982 ± 199 gramas obtidos na Base de Piscicultura Carlos Matiaze (Figura 2), do Curso de Engenharia de Pesca, Campus de Presidente Médici – RO.

Figura 2 – Base de Piscicultura Carlos Matiaze.

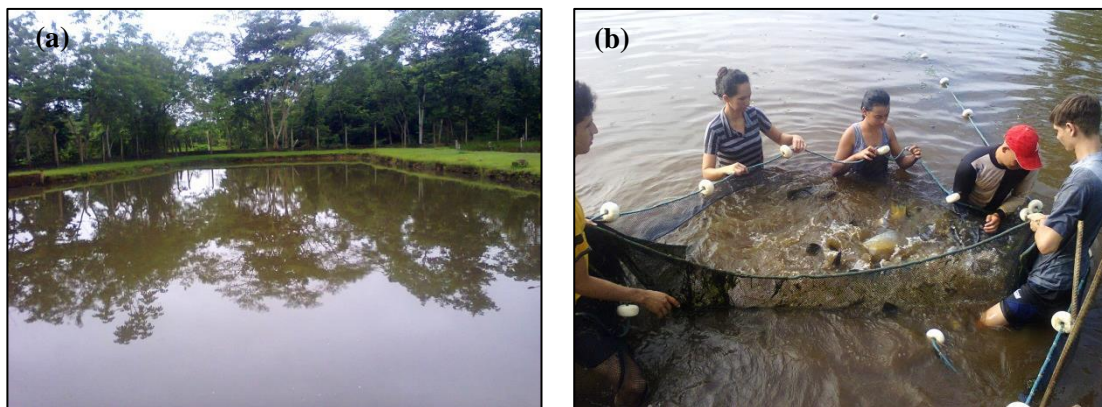


Fonte: Google Earth, 2014.

Os tambaquis foram oriundos de sistema de criação em viveiro escavado (Figura 3a) e alimentados com ração comercial extrusada com 28% de proteína bruta. Para o ensaio experimental os animais foram mantidos em jejum por 24 horas, capturados por rede de arrasto de malha 10 milímetros, com 100 metros de comprimento, contendo 2 metros de altura e fio 210 - 18

multifilamento sem nós (Figura 3b), transportados em caixas de fibra de vidro não isotérmica (simples) e alocados em caixas com capacidade máxima de 100 litros com oxigenação por aeradores durante a avaliação.

Figura 3 – (a) Viveiro que continha os peixes – Base de Piscicultura Carlos Matiaze; **(b)** Captura dos peixes.



Fonte: Arquivo pessoal, 2014.

Utilizou-se um delineamento inteiramente casualizado em arranjo fatorial de dois níveis de diluição do anestésico (26,5 e 53,0 mg.L⁻¹), duas temperaturas (27 e 31°C) e cinco repetições.

O Eugenol[®] (Biodinâmica) segundo as especificações do fabricante, era composto de *Syzygium aromaticum* puro (cravo da Índia) (Figura 4), sendo um líquido oleaginoso incolor ou amarelo, de odor forte e aromático de cravo e sabor picante, pouco solúvel na água e completamente solúvel no álcool, no éter, no clorofórmio, nos óleos fixos e no ácido acético glacial (AFFONSO, 2012).

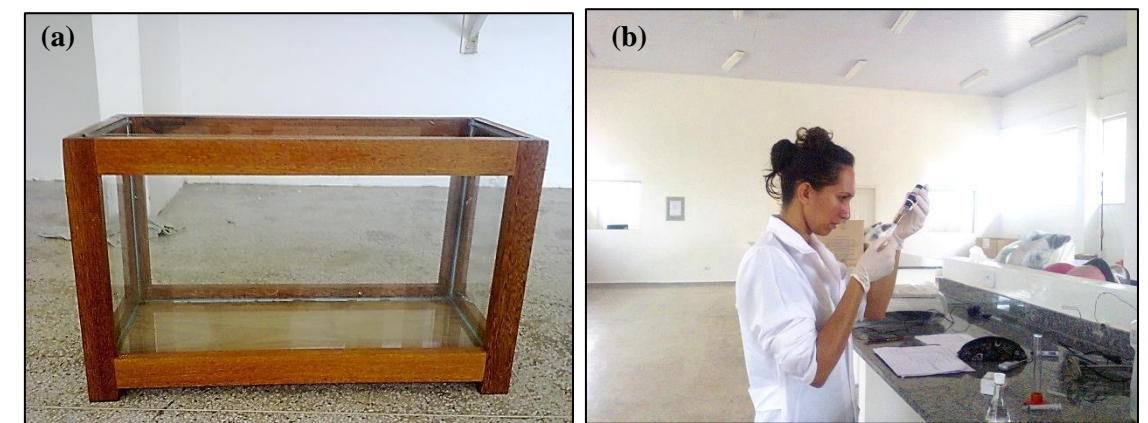
Figura 4 – Árvore, folhas, frutos e botões florais secos do cravo da Índia.



Fonte: Affonso, 2012.

Utilizou-se aquários de vidro contendo 45 litros de água (Figura 5a) e anestésico diluído na proporção de 1:20 de eugenol:álcool (Figura 5b), solução esta que posteriormente foi diluída nos níveis 26,5 e 53,0 mg.L⁻¹.

Figura 5 – (a) Aquário utilizado no experimento; (b) Preparo da solução (eugenol:álcool).

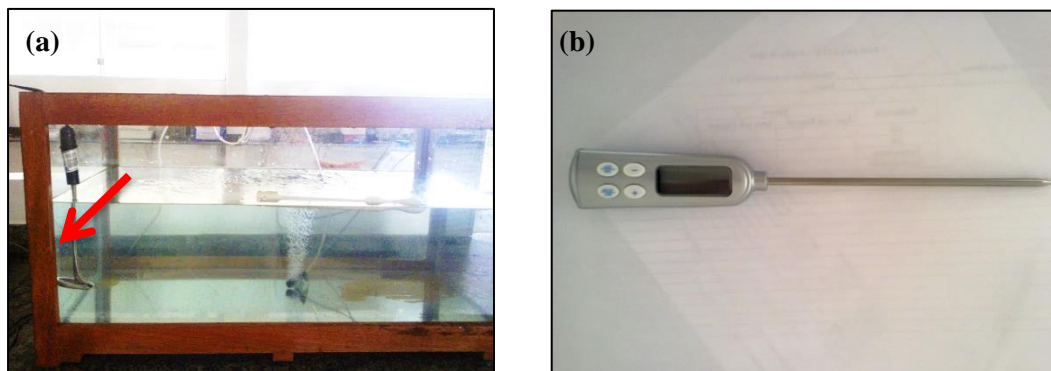


Fonte: Arquivo pessoal, 2014.

Para o parâmetro temperatura, após o monitoramento em cada nível de diluição a temperatura de 27°C, a solução do aquário foi aquecida através de serpentinas elétricas a 31°C, de modo que para aferir a temperatura, utilizando-

se um termômetro eletrônico manual (Figura 6). O mesmo procedimento de aquecimento, porém livre de anestésico, foi utilizado para a água do aquário de recuperação. Ambos os aquários foram dotados de oxigenadores.

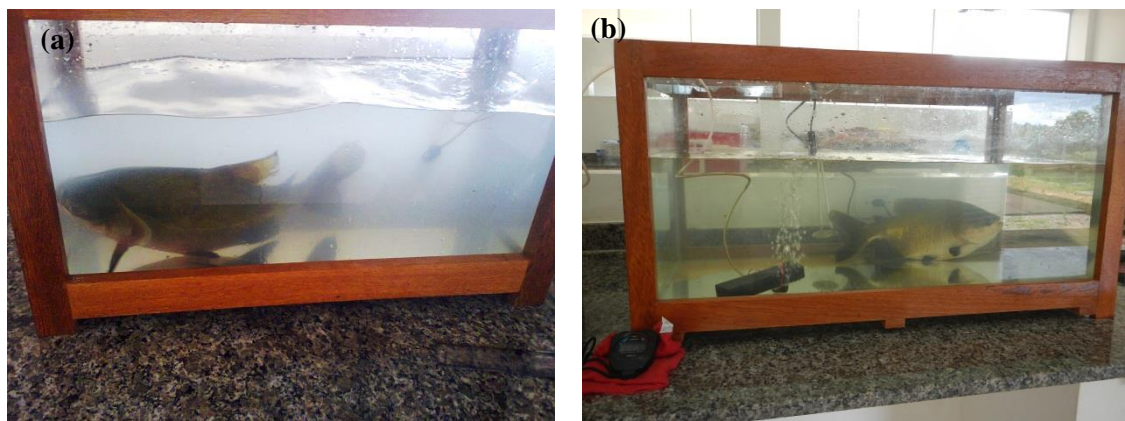
Figura 6 – (a) Água do aquário com a serpentina; (b) Termômetro utilizado no experimento.



Fonte: Arquivo pessoal, 2014.

Os animais sofreram, individualmente, a indução anestésica até atingirem os estágios de anestesia profunda (Figura 7a), sendo posteriormente pesados em balança analítica e em seguida colocados nos aquários de recuperação (Figura 7b) até atingirem total recuperação.

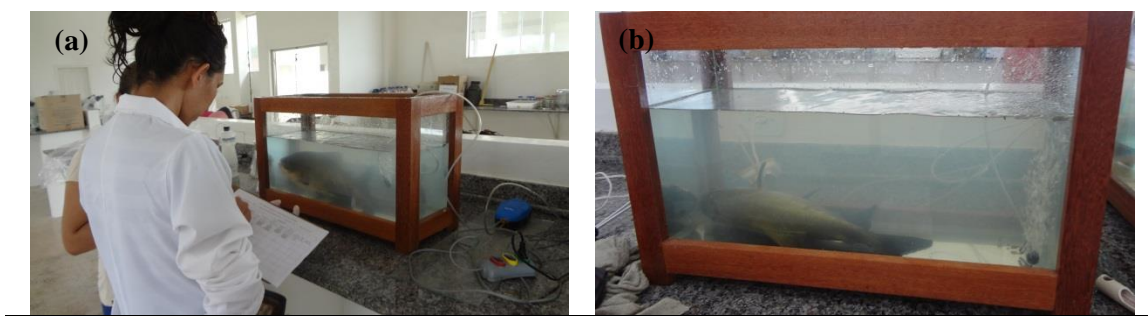
Figura 7 – (a) Peixes em estado de anestesia; (b) Aquário de recuperação anestésica.



Fonte: Arquivo pessoal, 2014.

As características comportamentais de indução anestésica (Figura 8a) avaliada foram sedação leve (SEDLEV), anestesia leve (ANESLEV), anestesia profunda (ANESPROF) (Figura 8b), conforme Ross e Ross (1999).

Figura 8 – (a) Avaliação anestésica dos tambaquis; (b) Tambaquis em estágio de anestesia profunda.



Fonte: Arquivo pessoal, 2014.

Para a recuperação foi avaliado entrada no tanque de recuperação (ENTAQ), retorno dos sinais (RESIN), retorno do equilíbrio parcial (REP), recuperação total do equilíbrio (RETOT), nado parcial (NAPARC), nado normal (NADNOR), total recuperação (TREC), seguindo o comportamento descrito por Hikasa et al. (1986), os estágios de indução/recuperação e características comportamentais dos animais são descritas na tabela 2.

Tabela 2 – Estágios de indução e recuperação da anestesia em eugenol e características comportamentais do tambaqui.

Estágios de indução à anestesia	Características comportamentais
Sedação leve	Perda de reação aos movimentos visuais e ao toque
Anestesia leve	Perda parcial do equilíbrio
Anestesia profunda	Perda total do equilíbrio
Estágios de recuperação da anestesia	Características comportamentais
Retorno dos sinais	Reaparecimento dos movimentos operculares
Retorno do equilíbrio	Retorno parcial do equilíbrio e de capacidade de nado
Recuperação total do equilíbrio	Posiciona vertical no aquário
Nado parcial	Movimentos lentos no aquário
Nado normal	Nado e reação a estímulos externos ainda vacilantes
Total recuperação	Total recuperação do equilíbrio e capacidade normal de nado

Fonte: Adaptado de Ross e Ross (2008) e Hikasa et al. (1986).

O tempo necessário para cada estágio na indução e na recuperação foram cronometrados e tabulados conforme planilha no apêndice 1.

Para a análise estatística, foi baseada no arranjo fatorial 2 x 2 (concentrações de eugenol e temperaturas) resultando em quatro tratamentos. As médias das variáveis avaliadas foram submetidas à ANOVA e comparadas pelo teste de Tukey com $\alpha=5\%$.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As concentrações de eugenol e temperaturas da água influenciaram no tempo de efeito anestésico dos tambaquis ($P < 0,05$). As concentrações de eugenol foram eficientes em induzir todos os animais ao estágio de anestesia profunda em até 3 minutos (tabela 3), porém, o sinal de hiperatividade antecedeu o efeito calmante em todos os animais.

A hiperatividade também foi observada por Grush et al. (2004) e Vidal et al. (2006). Segundo Mylonas et al. (2005) essa reação é característica ao efeito do eugenol, uma vez que exemplares de dourada (*Sparus aurata*) e robalo europeu (*Dicentrarchus labrax*) não apresentaram reações adversas à quantidade de álcool utilizado na diluição do anestésico. De acordo com Collins (1985), a euforia é o primeiro comportamento observado em um animal submetido à anestesia geral.

Diversos autores constataram redução no período necessário para a anestesia de peixes, à medida que se elevou a concentração (INOUE, 2003; KEENE et al., 1998; VIDAL et al., 2006; WATERSTRAT, 1999;), ao mesmo tempo em que observaram menor influência das concentrações na recuperação dos animais. Durante a indução anestésica, o comportamento dos peixes foi o mesmo observado por Vidal (2008) seguindo este padrão: hiperatividade ao primeiro contato com o anestésico, caracterizada pela natação agitada contra as paredes do aquário; natação lenta; parada do animal na posição dorso ventral, em alguns casos, com leve inclinação para um dos lados; perda da reação aos estímulos externos.

Observa-se que o efeito anestésico na dose 53 mg. L^{-1} , independente da temperatura (27 ou 31°C) é semelhante ($P > 0,05$) ao efeito do anestésico a temperatura da água a 31°C na dosagem de $26,5 \text{ mg.L}^{-1}$ e mais eficientes ($P < 0,05$) pelo menor período de latência em atinge a anestesia profunda (ANESPROF) que a menor dose ($26,5 \text{ mg.L}^{-1}$) na temperatura mais baixa (tabela 3). Pode-se inferir que caso o piscicultor dispunha de temperatura ambiente da água mais elevada, pode reduzir a quantidade do anestésico utilizada durante o manejo visto que a eficiência ao dobro da dose será a mesma.

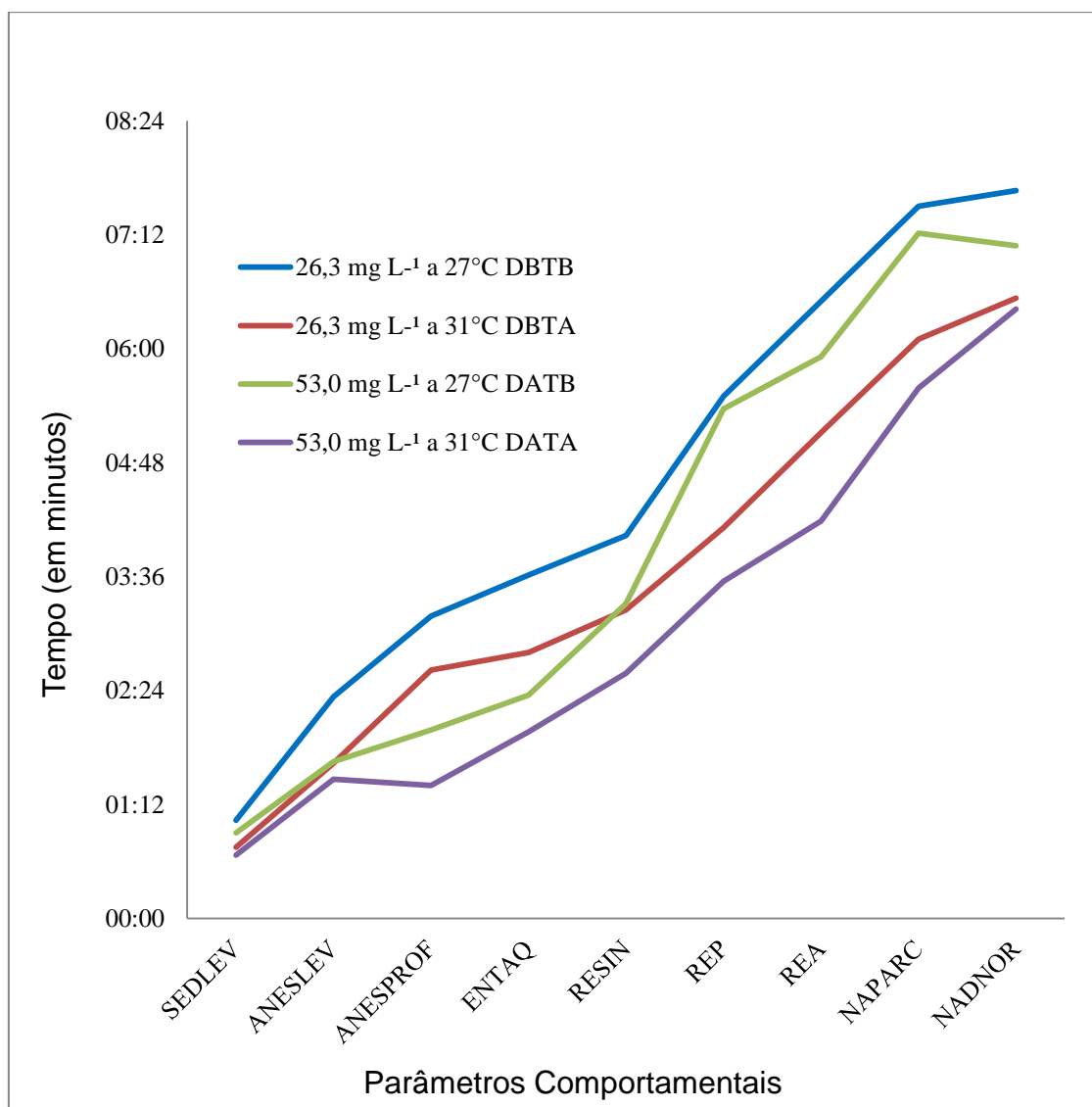
Tabela 3 – Respostas do tambaqui ao efeito anestésico do eugenol (período em minutos).

Variável	DOSE			
	26,5 mg.L ⁻¹		53,0 mg.L ⁻¹	
	Temperaturas			
	27°C DBTB	31°C DBTA	27°C DATB	31°C DATA
Sedação Leve (SEDLEV) ¹	01:20a	0:45ab	00:54ab	00:40b
Anestesia leve (ANESLEV) ¹	02:22a	01:38ab	01:39ab	01:28b
Anestesia profunda (ANESPROF) ¹	03:11a	02:37ab	01:59b	01:24b
Entrada no aquário (ENTAQ) ¹	03:37a	02:48ab	02:21bc	01:58c
Retorno de sinais (RESIN) ¹	04:02a	03:15ab	03:19ab	02:35b
Retorno do equilíbrio parcial (REP) ¹	05:30a	04:07ab	05:22ab	03:33b
Recuperação do equilíbrio (REA)	06:02	05:07	05:55	04:11
Nado parcial (NAPARC) ¹	07:29a	06:06ab	07:13ab	05:35b
Nado normal (NADNOR)	07:40	06:32	07:05	06:25
Total do estágio de recuperação (TREC) ¹	04:28ab	04:05b	05:45a	05:01ab

¹ Médias na mesma linha seguidas de letras distintas, diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. ² DBTB – Dose e temperatura baixas; DBTA – Dose baixa e temperatura alta; DATB – Dose alta e temperatura baixa; DATA – Dose e temperatura altas.

O gráfico 1 ilustra o comportamento dos peixes nas temperaturas (27 e 31°C) e dosagens (26,5 e 53,0 mg.L⁻¹). Portanto, pode ser observada a maior eficiência anestésica em temperaturas mais elevadas, tanto que independe da dosagem aplicada, todavia, na dosagem de 53,0 mg.L⁻¹ apresentou maior efeito de anestesia profunda independente da temperatura utilizada, porém sendo semelhante (P>0,05) a menor concentração combinada a maior temperatura da água.

Gráfico 1 – Respostas comportamentais de tambaquis ao efeito anestésico do eugenol (tempo em minutos) em diferentes dosagens e temperaturas.



Para os estágios de anestesia mais leves, dadas pelas reações do animal avaliadas em SEDLEV e ANESLEV, enquanto dotados de alguns movimentos, observou-se diferença ($P < 0,05$) entre a DATA (53 mg.L^{-1} a 31°C) e a DBTB ($26,5 \text{ mg.L}^{-1}$ e 27°C), não havendo diferenças ($P > 0,05$) entre DBTA E DATB.

A entrada dos peixes no aquário (ENTAQ) contendo água isenta de anestésicos, foi observado maior rapidez na recuperação dos peixes quanto maior a temperatura a $26,5 \text{ mg.L}^{-1}$ e a dosagem $53,0 \text{ mg.L}^{-1}$, independente da

temperatura ($P < 0,05$), de modo que o efeito anestésico permitiu maior eficiência nas atividades de biometria.

Quanto à influência da temperatura sobre o efeito anestésico Baldisserotto (2002) menciona que este efeito está relacionado com a variação da temperatura corporal, pois esta afeta a velocidade das reações bioquímicas, o aumento eleva a energia cinética dos átomos e moléculas, facilitando as reações.

De acordo com Schmidt-Nilsen (2002), a temperatura corporal dos peixes é igual àquela do meio ambiente em que vivem cujo aumento eleva a taxa metabólica dos animais e, por consequência, o consumo de oxigênio. Ainda, segundo esse autor, os peixes podem compensar a elevada demanda por oxigênio com maior número e/ou amplitude dos movimentos respiratórios, possibilitando que mais água passe pelas brânquias, assim como as substâncias nela dissolvidas.

A temperatura ambiente da água da represa que abastece os viveiros do cultivo de tambaqui da Base de Piscicultura apresentou médias das máximas e mínimas de 27 e 39,7°C no trimestre que antecede o ensaio experimental, conforme estudo paralelo realizado por Mendes (2014), sendo que a média do viveiro foi de 29,0°C. Ressalta-se que temperaturas da água de viveiros mais rasos ou elevada densidade de peixes podem alcançar valores mais elevados que 29°C.

Pough et al. (2008) menciona que precisa-se considerar a temperatura, de modo que afeta o vertebrado, tendo maior efeito no metabolismo dos anfíbios, pois são animais pecilotérmicos e possuem pouca capacidade de manter a diferença entre a temperatura corpórea e a temperatura da água. Esta descrição enfatiza que os organismos vivos estão sujeitos às leis da física e da química. Devido ao fato da temperatura influenciar as taxas nas quais as reações químicas ocorrem, a temperatura afeta os processos vitais dos organismos.

Portanto, a temperatura influencia diretamente as atividades metabólicas do animal contribuindo para a susceptibilidade devido ao estresse de patógenos quando não se encontra em seu estado ideal, por isso, a necessidade de anestésicos na água, principalmente, no manejo e transporte

destes indivíduos, pois ao entrarem no estado de anestesia diminuíram seus movimentos (PACHECO, 2009).

No aquário em água límpida os peixes iniciam os primeiros sinais de recuperação, com diferença ($P < 0,05$) temporal entre o tratamentos temperatura/dose mais forte e mais fraco de 2:07 minutos para a avaliação do retorno dos sinais (RESIN) e 2:37 minutos para o retorno do equilíbrio parcial (REP).

Contudo, não houve diferença significativa ($P > 0,05$) entre as temperaturas ou doses de anestésico para a recuperação do equilíbrio (REA) em água, que apresentou média de 5min18seg entre os tratamentos, podendo-se inferir que independente do tratamento temperatura/dose, o período de recuperação do equilíbrio (REA) é o mesmo.

Em relação ao início das atividades natatórias posterior ao efeito anestésico, o nado parcial (NAPARC) foi retomado aos 7min29seg e aos 5min35seg para a menor temperatura à menor dose de eugenol e maior temperatura a maior dose de eugenol, sendo semelhantes e mais lenta a recuperação do nado parcial entre os tratamentos de menor dose do anestésico, independente da temperatura e da menor temperatura na maior dose de anestésico em relação aos maiores valores temperatura/dose (7:22 vs. 5:35 minutos).

Apesar das diferenças entre os tratamentos para o NAPARC, o nado normal dos peixes não apresentou relação entre os tratamentos temperaturas/doses ($P > 0,05$) com média de 7:15 minutos.

Ao avaliar a soma de todos os estágios da recuperação, excluindo-se o tempo dispendido na indução e manejo biométrico, obteve-se o total dos estágios de recuperação (TREC) que demonstra resultados interessantes de efeito do anestésico em diferentes doses e temperaturas.

Pode-se observar que, o valor médio para a DBTA apresentou o menor período para a recuperação total ao efeito anestésico enquanto a menor temperatura na maior dose dispendeu tempo maior para recuperação ao efeito anestésico dos animais (4:05 vs. 5:45 minutos).

O que pode ser explicado pela eficiência na metabolização do anestésico nos organismos submetido à temperatura mais elevada da água e a menor dose do anestésico; assemelhando-se ($P < 0,05$) ainda ao período gasto

na maior temperatura à 53 mg.L⁻¹, em função da maior atividade metabólica e menor efeito residuário do anestésico mesmo utilizando o dobro da dose do anestésico e semelhante a menor temperatura aos 26,5 mg.L⁻¹, com rápida recuperação relacionada a reduzida dose do anestésico.

Em oposição, temperaturas baixas, mesmo a dose mais alta do anestésico (53 mg.L⁻¹ a 27°C) podem dificultar a metabolização do anestésico no organismo do animal, retardando o tempo de recuperação.

Conforme Rocha (2005) todos os processos que ocorrem em um organismo para manter seu funcionamento necessitam de uma temperatura adequada. Isso se deve ao fato de tais processos envolverem proteínas, enzimas, reações químicas e físicas que ocorrem mais rapidamente ou de forma muito lenta de acordo com a temperatura do meio em que se encontram. Portanto, se a temperatura baixar muito as reações ficam lentas e podem até cessar parando a função corporal.

Florio (1996) afirma que para a absorção de um medicamento no organismo é necessário uma série de processos até chegar a corrente sanguínea, como por exemplo, atravesse as diversas membranas biológicas (epitélio gastrointestinal, membranas plasmáticas).

De modo que Florio (1996) menciona ainda que a parte não ionizada das moléculas de um medicamento tem característica menos polar e mais lipossolúvel que a parte ionizada. Como as membranas celulares dos organismos vivos são predominantemente lipídicas, a parte não ionizada, isto é lipossolúvel, do ácido ou da base é mais facilmente absorvida.

Os animais, em sua maioria, apresentam amplas faixas de tolerância à temperatura, entretanto a faixa de conforto ambiental, que proporciona as condições ideais para o desempenho das funções de crescimento e reprodução, é específica (SCHMIDT-NIELSEN, 2002).

A temperatura corporal dos peixes é regulada através do sangue, no processo respiratório, pois, quando o sangue passa pelas brânquias, o calor metabólico gerado é perdido para o ambiente, através da água, portanto, animais expostos a temperaturas inferiores as faixas ideais têm o consumo de alimento limitado à sua taxa metabólica basal. Quando o animal atinge a temperatura corpórea ideal, o alimento consumido é otimizado, liberando a energia necessária à multiplicação celular e ao crescimento.

Para Inoue (2003), as substâncias anestésicas associadas à temperatura ideal contribuem para a redução da hipermotilidade provocada pelo manuseio dos animais, dessa forma, são reduzidos os riscos de acidentes para os peixes e àqueles que conduzem o trabalho e, segundo Vidal et al. (2006) a utilização do eugenol facilita o manejo dos peixes.

O período total de indução e de recuperação dos peixes ultrapassaram os três e cinco minutos máximos preconizados por Marking e Meyer (1985) para que não haja prejuízos quanto a recuperação, chegando há 7:40 segundos, todavia, não foi observada nenhuma alteração ou dificuldade após a recuperação nos mesmos.

A tabela 4 ilustra outros trabalhos desenvolvidos com o intuito de avaliar o efeito e doses ideais de anestesia em tambaquis utilizando o eugenol como fonte de indução.

Tabela 4 – Tabela comparativa do uso de eugenol em tambaqui.

Dose efetiva (mg.L⁻¹)	Temperatura (°C)	Período de indução/recuperação	Autor
20	29,0	15 min	INOUE et al. (2010)
50	28	2:09 min	VIDAL et al. (2007)
65	-	30 min	ROUBACH et al. (2005)

Vidal et al. (2007) avaliou a influência em diferentes concentrações de eugenol para indução e recuperação de tambaqui e matrinxã e os resultados foram semelhantes ao deste trabalho, pois mostrou que conforme houve o aumento das dosagens o período de indução diminuiu significativamente.

No trabalho de Vidal et al. (2007) verificaram ainda que não há influência do peso corporal de juvenis de matrinxã e de tambaqui sobre o período de indução e de recuperação à ação anestésica do eugenol. No entanto, existe diferença entre as espécies e o tambaqui apresenta tempo maior, tanto na indução, quanto na recuperação do anestésico.

Pesquisas relacionadas a respostas metabólicas em peixes tropicais expostos a diferentes anestésicos ainda são poucos estudados, todavia, Inoue et al. (2010) avaliaram respostas metabólicas do tambaqui ao eugenol, por meio do estudo de alterações de parâmetros sanguíneos e plasmáticos, em

banhos anestésicos simulados, indicando vantagens e limitações do seu uso para a espécie.

De maneira que respostas típicas ao estresse foram detectadas devido ao manuseio imposto aos peixes durante a realização dos banhos anestésicos. O eugenol não reduziu totalmente essas reações ao estresse. Por outro lado, esse anestésico não provocou estresse adicional em exposições curtas de 15 minutos em concentrações próximas a 20 mg.L^{-1} (INOUE et al. 2010)

A resposta ao estresse é um mecanismo que permite ao peixe preservar a saúde frente à ameaça de agentes estressores. Dependendo da severidade do estressor, o mecanismo de resposta pode se tornar disfuncional e impactar negativamente a fisiologia do animal.

O cortisol plasmático tem papel preponderante na inibição do desempenho reprodutivo de peixes desencadeado por estresse. O conhecimento das mudanças fisiológicas causadas por estresse é importante para a elaboração de programas reprodutivos e de manejo em aquicultura (LIMA, 2006). Entretanto, a análise do cortisol plasmático em peixes nas condições brasileiras é muitas vezes economicamente pouco viável devido o elevado custo dos equipamentos.

Roubach et al. (2001) detectaram aumento adicional de glicemia em matrinxã, quando submetido a banho anestésico com MS-222 em concentrações acima de 150 mg.L^{-1} por 10 minutos.

Em outro estudo, a benzocaína proporcionou redução da hiperglicemia plasmática em matrinxã, durante banhos anestésicos em concentrações de até 60 mg.L^{-1} por 10 minutos (Inoue et al. 2004). Deriggi et al. (2006) e Barbosa et al. (2007) encontraram alguns efeitos redutores de estresse do eugenol em tilápia e matrinxã, respectivamente, em concentrações de 80 e 60 mg.L^{-1} por 10 minutos.

Roubach et al. (2005) não observaram diminuição de estresse em juvenis de tambaqui pelo eugenol em concentrações de até 135 mg.L^{-1} por 10 minutos. Porém nesses três trabalhos com eugenol, estresse adicional, exclusivamente devido ao anestésico, não foi observado.

Além destes efeitos que envolvem o metabolismo e comportamento os anestésicos possuem outro fator de grande relevância, pois a maioria é absorvida nos tecidos, podendo estes acumular resíduos (MARKING : MEYER,

1985). Para eliminar esses resíduos é indispensável que haja depuração dos peixes antes do abate.

O índice de depuração destes depende do tipo do fármaco utilizado, da espécie alvo, da concentração e da via de administração, pode ser de algumas horas a várias semanas (BOOTH, 1988). Mesmo que os resíduos anestésicos presentes nos peixes não sejam prejudiciais ao consumo humano, estes podem comprometer o sabor natural do peixe, quando forem consumidos (STONE : TOSTIN, 1999).

Desta forma a anestesia do indivíduo está condicionada pelo ambiente (temperatura, pH e salinidade) e a fatores biológicos (tamanho, peso e conteúdo lipídico) do animal (ROSS : ROSS, 1999). Um exemplo do anestésico está condicionado pelo ambiente é o fato do óleo de cravo não se dissolver completamente na água abaixo de 15°C (WOODY et al., 2002).

Em temperaturas mais altas a taxa metabólica do peixe é maior e consequentemente a indução à anestesia é mais rápida (GOMES : ROUBACH, 2001). A eficácia do anestésico também está relacionada ao tipo de anestésico, da concentração utilizada e da duração da exposição ao fármaco (ROSS : ROSS, 2008).

Sabe-se que os aspectos anatômicos e fisiológicos são espécie-específicos, além disso, a resistência e tolerância aos anestésicos variam de indivíduo para indivíduo, espécies afins podem diferir muito quanto à utilização de determinado anestésico, a eficácia do anestésico geralmente diminui com o tamanho do peixe (OLSEN et al., 1995), assim, em peixes menores a indução à anestesia é mais rápida e a recuperação mais lenta (ROUBACH et al., 2002).

6 CONCLUSÕES

A dose do anestésico eugenol de $26,5 \text{ mg.L}^{-1}$ a 31°C , apresentou-se como mais indicada para o manejo de rotina nas pisciculturas pela eficiência aos sinais de anestesia profunda, semelhante aos da dose 53 mg.L^{-1} , e eficiência no tempo de recuperação total dos sinais submetendo o animal, aparentemente, a menor estresse de manejo.

Portanto se o a temperatura da água no momento do manejo estiver mais elevada o piscicultor pode economizar na quantidade do anestésico visto que a dosagem mais eficiente ($26,5 \text{ mg.L}^{-1}$ a 31°C) se encontrou semelhante à de 53 mg.L^{-1} a 31°C , de modo que a temperatura influenciou diretamente o efeito e dosagem anestésica em que o peixe é submetido.

O uso de anestesia pelo método de imersão no manejo de tambaquis se mostrou viável para os animais, proporcionando segurança necessária aos peixes e manipuladores durante o manejo.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AFFONSO, R. S.; et al. Aspectos Químicos e Biológicos do Óleo Essencial de Cravo da Índia. **Revista Virtual de Química**, v. 4, n. 2, p. 146-161, 2012.
- ANDERSON, W.G.; MCKINLEY, R.S.; COLAVECCHIA, M. The use of clove oil as an anesthetic for rainbow trout and its effects on swimming performance. **North American Journal of Fisheries Management**. v. 17, p. 301–307, 1997.
- BALDISSEROTTO, B. **Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura**. Santa Maria: Ed. UFSM, p. 212, 2002.
- BARBOSA, L.M.; MORAES, G.; INOUE, L.A.K.A. Metabolic responses of matrinxa to eugenol in anesthetic baths. **Acta Scientiarum Biological Sciences**, n. 29, p. 255-260, 2007.
- BARCELLOS, L. J. G.; SOUZA, S. M. G. de; WOEHL, V. M. **Estresse em peixes: fisiologia da resposta ao estresse, causas e consequências**. Boletim do Instituto de Pesca, v. 26, p. 99-111, 2000.
- BIZARRO, Y. W. S. **Associação do anestésico Óleo-de-cravo (Eugenol), Benzocaína e Cloreto de sódio em diferentes concentrações para Tilápia do Nilo submetidos à simulação de transporte**. Monografia (Graduação) – Universidade de Brasília, Faculdade de Agronomia e Medicina e Veterinária, Laboratório de Anatomia Veterinária. Brasília, 2011. 41 p.
- BOLASINA, S. N. Cortisol and hematological response in Brazilian codling, *Urophycis brasiliensis* (Pisces, Phycidae) subjected to anesthetic treatment. **Aquaculture International**, v. 14, p. 569-575, 2006.
- BOOTH, N.H. Drug and chemical residues in the edible tissues of animals. **Veterinary Pharmacology and Therapeutics**. 6th ed. Iowa State Univ. Press, Iowa, p. 1149-1159, 1988.
- BORGHETTI, J. R.; SOTO, D.; OSTRENSKY, A. **Aquicultura no Brasil: o desafio é crescer**. Brasília, 2008. 276 p.
- BOWSER, P. R. Anesthetic options for fish. In: Recent Advances in Veterinary and Analgesia: Companion animals. **International Veterinary Information Service**. Ithaca, Nova York, EUA, 2001.
- BROWN, L. A. Anesthesia in fish. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v.18, n. 2, p.317-329, 1988.
- CADAVID GARCIA, E. A. **O clima do Pantanal Mato-grossense**. Corumbá: Embrapa Pantanal. (Circular técnica, 14). 1984.

CARMICHAEL, G.J.; TOMASSO, J.R. Survey of fish transportation equipment and techniques. **The Progressive Fish-Culturist**, v. 80, p.155-159, 1988.

CARNEIRO, P.C.F.; URBINATI, E.C.; MARTINS, M. L. **Estresse devido ao transporte e à ação da benzocaína em parâmetros hematológicos e população de parasitas em matrinxã, *Brycon cephalus* (Teleostei: Characidae)**. 2001. 139f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal. 2001. 139f.

CARVALHO, C. S.; FERNANDES, M. N. Effect of temperature on copper toxicity and hematological responses in the neotropical fish *Prochilodus scrofa* at low and high pH. **Aquaculture**, n. 251, p. 109-117. 2006.

CHANDROO, K. P.; DUNCAN, I. J. H.; MOCCIA, R. D. Can fish suffer: perspectives on sentience, pain, fear and stress. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 86, p. 225 - 250, 2004.

COLLINS, V. J. **Princípios de anestesiologia**. 2. ed. Rio de Janeiro – RJ. : Guanabara Koogan, 1985. 1025 p.

COSTA, O. F. T.; et al. Susceptibility of the Amazonian fish, *Colossoma macropomum* (Serrasalminae) to short-term exposure to nitrite. **Aquaculture**, n. 232, p. 627-636. 2004.

CUNHA, M. A. **Anestesia em jundiás (*Rhamdia quelen*) expostos a substâncias isoladas de plantas**. 2007. 65f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Santa Maria. 2007. 65f.

CUNHA, M.A. **Níveis de cortisol em jundiás (*Rhamdia quelen*) expostos ao óleo de cravo (Eugenol) e extrato de *Condalia buxifolia***. In: AQUACIENCIA 2006, Bento Gonçalves. Anais... Bento Gonçalves: Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática, 2006. CDROM.

DELBON, M.C. **Ação da Benzocaína e do Óleo de Cravo sobre parâmetros fisiológicos de tilápia, *Oreochromis niloticus***. 2006. 91f. Dissertação (Mestrado em aquicultura) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal. 2006. 91f.

DERIGGI, G.; INOUE, L.A.K.A.; MORAES, G. Stress responses in nile tilapia (*Oreochromis niloticus*): assessment of eugenol as alternative anesthetic. **Acta Scientiarum Biological Sciences**, n. 28, p. 269-274. 2006.

DUNLOP, R.; LAMING, P. Mechanoreceptive and nociceptive responses in the central nervous system of goldfish (*Carassius auratus*) and trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Journal of Pain**, v. 6, p. 561–568, 2005.

FAÇANHA, M.F.; GOMES, L.C. A eficácia do mentol como anestésico para tambaqui (*Colossoma macropomum*, Characiformes: Characidae). **Acta Amazônica**, v. 35, n. 1, p. 71-75, 2005.

FAO, Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. **El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2014**. Roma, 2014. 253 p.

FLORIO, J. C. **Absorção, Distribuição, Biotransformação e Eliminação**. Farmacologia aplicada à medicina veterinária. 1 ed. RIO DE JANEIRO: GANABARA KOOGAN, p. 23-37. 1996.

GOMES, L. C. Efficacy of benzocaine as an anesthetic in juvenile tambaqui *Colossoma macropomum*. **Journal World Aquaculture Society**, v. 32, p. 426-431, 2001.

GOMES, L. C.; et al. Cage culture of tambaqui (*Colossoma macropomum*) in a central Amazon floodplain lake. **Aquiculture**. v. 253, p. 374-384, 2006.

GROTTUM, J. A. **Effect of oxygenation, aeration and pH control on water quality and survival of turbot, *Scophthalmus maximus* (L.), kept at high densities during transport**. Aquaculture Research, Oxford, v. 28, n. 2, p. 159-164, 1997.

GRUSH, J.; NOAKES, D.L.G.; MOCCIA, R.D. The efficacy of clove oil as an anesthetic for the zebrafish, *Danio rerio*. **Zebrafish**, New Rochelle, v. 1, n. 1, p. 46-53, 2004.

GUÉNETTE, S.A.; et al. Pharmacokinetics of eugenol in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) **Aquaculture**, v. 266, p. 262-265, 2007.

HIKASA, Y. Anesthesia and recovery with tricaine methanesulfonate, eugenol and thiopental sodium in the carp, *Cyprinus carpio*. **Journal of Veterinary Science**, Tokyo, v. 48, p. 341-351, 1986.

HILL, J.V.; DAVISON, W.; FORSTER, M.E. The effects of fish anaesthetics (MS-222, metomidate and AQUA-S) on heart ventricles, the cardiac vagus and branchial vessels from Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 27, p. 167-177, 2004.

HONCZARYK, A.; INOUE, L. A. K. A. Anestesia do pirarucu por aspersão direta nas brânquias do eugenol em solução aquosa. **Ciência Rural**, v.39, n. 2, 2009.

HOSKONEN, P.; PIRHONEN, J. The effect of clove oil sedation oxygen consumption of six temperate-zone fish species. **Aquaculture Research**, v. 35, p.1002-1005, 2004.

INOUE, L. A. K. A.; et al. Avaliação de respostas metabólicas do tambaqui exposto ao eugenol em banhos anestésicos. **Acta Amazonica**. Manaus, v. 41, n. 2, p. 327 – 332, 2010.

INOUE, L.A.K.A. Clove oil as anaesthetic for juveniles of matrinxã *Brycon cephalus* (Gunther, 1869). **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 33, n. 5, p. 943-947, 2003.

INOUE, L.A.K.A.; et al. Efeito do óleo de cravo na resposta de estresse do matrinxã (*Brycon cephalus*) submetido ao transporte. **Acta Amazonica**, v.35, p. 289-295, 2005.

INOUE, L.A.K.A.; HACKBARTH, A.; MORAES, G. Assessment of 2-phenoxyethanol and benzocaine as anesthetics for field procedures in matrinxã (*Brycon cephalus*). **Biodiversidade Pampeana**, n. 2, p. 10-15. 2004.

IVERSEN, M. A.; et al. The efficacy of metomidate, clove oil, Aqui-Sk and BenzoakR as anaesthetics in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) smolts, and their potential stress-reducing capacity. **Aquaculture**, n. 221, p.549-566, 2003.

IWAMA, G.; ACKERMAN, A. Anaesthetics. In: HOCHACHKA, P.; MOMMSEN. Analytical techniques in biochemistry and molecular biology of fishes. Amsterdam: **Elsevier Science**, v. 3, cap. 1, p. 1-5, 1994.

JORGENSEM, E. H.; et al. **Fasting modifies Aroclor 1254 impact on plasma cortisol, glucose, and lactate responses to a handling disturbance in Arctic charr**. *Comparative Biochemistry and Physiology*, n. 132C, p. 235-245. 2002.

KILDEA, M. A.; et al. Accumulation and clearance of the anesthetics clove oil and AQUI-S™ from the edible tissue of silver perch (*Bidyanus bidyanus*). **Aquaculture**, v. 232, p. 265-277, 2004

KUBITZA, F. Coletânea de informações aplicadas ao cultivo do tambaqui, do pacu e de outros peixes redondos – Parte 2. **Panorama da Aquicultura**. Rio de Janeiro, v. 14, n. 82, 39 p. 2004.

KUBTIZA, F. Amenizando as perdas de alevinos após o manejo e o transporte. **Panorama da Aquicultura**, v. 13, n.80, 65 p. 2003.

KUBTIZA, F. Transporte de peixes vivos. **Panorama da Aquicultura**, Rio de Janeiro, v. 7, p. 20-26. 1997.

LAZZARI, R. **Pontos críticos de manejo na piscicultura**. Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Educação Superior Norte, Palmeira das Missões, RS. [20--].

LIMA, L. C.; et al. Estresse em peixes. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.30, n. 3/4, p. 13. 2006.

MARKING, L.L.; MEYER, F.P. **Are better anesthetics needed in fisheries.** Fisheries, v. 10, n. 6, p. 2-5. 1985.

MAZEAUD, M.M.; MAZEAUD, F.; DONALDSON, E.M. Primary and secondary effects of stress in fish: some new data with a general review. **Transactions of the American Fisheries Society**, v. 106, p.201-212. 1977.

MAZZAFERA, P. Efeito alelopático do extrato alcoólico do cravo-da-índia e eugenol. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 26, n. 2, p. 231-238. 2003.

MEINERTZ, J.R.; et al. Iseugenol concentrations in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) skin-on fillet tissue after exposure to AQUI-S™ at different temperatures, durations, and concentrations. **Aquaculture**, v. 254, p. 347-354. 2006.

MELLO, R. A. **Avaliação de 2-fenoxietanol e mentol em juvenis de Tilápias (*Oreochromis niloticus*)**/Raquel de Andrade Mello. – Lavras: UFLA, 2010. 35 p.: il. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2010.

MENDES SILVA, S. **Avaliação limnológica da represa e efluente da base de piscicultura Carlos Eduardo Matiazze, Presidente Médici, RO.** 2014 55f. Dissertação – Departamento de Engenharia de Pesca, Fundação Universidade Federal de Rondônia, Presidente Médici, Rondônia, 2014. em 57 f.

MENDONÇA, P. P. **Influência do fotoperíodo no desenvolvimento de juvenis de tambaqui *Colossoma macropomum*.** [Dissertação de Mestrado]: Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. 2007.

MOYLE, P.B.; CECH, J.J. **Fishes: An introduction to ichthyology.** 2ed. Prentice Hall. Englewood Cliffs, NJ, USA. 1996. 559p.

MPA, Ministério da Pesca e Aquicultura. **Boletim Estatístico da Pesca (Brasil/2010).** Brasília, 2012. 129 p.

MYLONAS, C.C.; et al. Comparative efficacy of clove oil and 2- phenoxyethanol as anesthetics in the aquaculture of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and gilthead sea bream (*Sparus aurata*) at different temperatures. **Aquaculture**, v. 246, p. 467-481. 2005.

NUNES, E. S.; et al. Enzimas digestivas exógenas na alimentação de juvenis de tambaqui. **Pesquisa Agropecuária Brasileira.** Brasília, v. 41, n. 1, p. 139-143, 2006.

OLIVEIRA, A. M. B. M. S. Estresse dos peixes em piscicultura intensiva, Tópicos Especiais em Piscicultura Tropical Intensiva. **Revista Brasileira de Saúde e Produção**, v.7, n. 2, p. 164-168, 1999.

OLIVEIRA, L. **Manual de qualidade da água para a aquicultura**. Santa Catarina, 12 p. 1995.

OLIVEIRA, R. C. O panorama da aquicultura no Brasil: a prática com foco na sustentabilidade. **Revista Intertox de Toxicologia**, Risco Ambiental e Sociedade, v. 2, n. 1. 2009.

PACHECO, J. T. C. **Efeito da temperatura da água e da sedação com eugenol na sobrevivência do plati (*Xiphophorus maculatus* Günther)**. Dissertação (mestrado) – Universidade Católica de Goiás, Mestrado Profissional – Tecnologia em Aquicultura Continental 2009.

PARK, M.O.; et al. Anaesthetic efficacy and physiological responses to clove oil anaesthetized kelp grouper *Epinephelus bruneus*. **Aquaculture Research**, v. 39, p. 877-884. 2008.

PIRHONEN, J., SCHRECK, C.B. Effects of anesthesia with MS-222, clove oil and CO₂ on feed intake and plasma cortisol in steelhead trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v. 220, p. 507-514. 2003.

POUGH, F. H.; JANIS, C. M.; HEISER, J. B. **A vida dos vertebrados**. 4. ed. São Paulo: Atheneu Editora, 2008.

ROCHA, N. C. **Termorregulação**. 2005. Disponível em: <<http://www.uff.br/fisiovet/Conteudos/termorregulacao.htm>> Acesso em: 02 jul. 2014.

ROSE, J. D. The neurobehavioral nature of fishes and the question of awareness and pain. **Reviews in Fisheries Science**, v. 10, p. 1-38, 2002.

ROSS, L. G.; ROSS, B. **Anaesthetic and sedative techniques for aquatic animals**, 3rd ed. Blackwell, London, UK. p. 222. 2009.

_____. **Anaesthetic and sedative techniques for aquatic animals**. 2nd ed. Oxford: Blackwell Science. 1999.

_____. **Anaesthetic and sedative techniques for aquatic animals**. 3rd ed. Oxford: Blackwell Science, p. 236. 2008.

ROSS, R.M.; BACKMAN, T.W.H.; BENNETT, R.M. Evaluation of the Anesthetic metomidate for the handling and transport of juvenile american shad. **Transactions of the American Fisheries Society**, v. 55, p. 236-243. 1993.

ROUBACH, R.; GOMES, L. C. O uso de anestésicos durante o manejo de peixes. **Panorama da Aquicultura**, n. 66, p.37-40. 2001.

ROUBACH, R.; et al. Eugenol as an efficacious anaesthetic for tambaqui, *Colossoma macropomum* (Cuvier). **Aquaculture Research**, Oxford, v. 36, n. 11, p. 1056-1061. 2005.

SCHMIDT-NILSEN, K. **Fisiologia Animal Adaptação e Meio Ambiente**. São Paulo, SP, Editora Santos, 611 p. 2002.

SCHNAIDER, T.B.; SOUZA, C. Aspectos éticos da experimentação animal. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v. 53, n. 2, p. 278-85. 2003.

SCHRECK, C. B.; MOYLE, P. B. (Eds.), Methods for Fish Biology. **American Fisheries Society**, Bethesda, p. 213-272. 1990.

SEDGWICK, C. J. Anesthesia in fish. Veterinary Clinics of North America. Veterinary Clinics of North America. **Food and Animal Practice**, v. 2, n. 3, p. 737-742. 1986.

SILVA, V. K.; FERREIRA, M. W.; LOGATO, P. V. **Qualidade da água na Piscicultura**. Disponível em: <http://www.editora.ufla.br/BolExtensao/pdfBE/bol_94.pdf>. Acesso em: 20 abr. 2014.

SLADKY, K.K.; et al. Comparative efficacy of tricaine methanesulfonate and clove oil for use as anesthetics in red pacu (*Piaractus brachypomus*). **American Journal of Veterinary Research**, v. 62, n. 3, p. 337-342. 2001.

SMALL, B. C. Anesthetic efficacy of metomidate and comparison of plasma cortisol responses to tricaine methanesulfonate, quinaldine and clove oil anesthetized channel catfish *Ictalurus punctatus*. **Aquaculture**, v. 218, p. 177-185. 2003.

SMALL, B. C.; et al. Effects of rested-harvest using the anesthetic AQUI-S™ on channel catfish, *Ictalurus punctatus*, physiology and fillet quality. **Aquaculture**, v. 262, p. 302-318, 2007.

SNEDDON, L.U. Evolution of nociception in vertebrate: comparative analysis of lower vertebrates. **Brain Research Reviews**, v. 46, p. 123-130, 2004.

SOUZA, V. S. **Efeito da restrição alimentar e da realimentação no crescimento e metabolismo energético de juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*, HOLMBERG, 1887)**. 1998. 118 f. Tese (Doutorado em Aquicultura) – Universidade Estadual Paulista, Centro de Aquicultura Jaboticabal. 1998.

SOUZA-JUNIOR, V.B.; ALVES-JUNIOR, T.T. **A eficácia do óleo de cravo (eugenol) como anestésico no manejo de juvenis de robalo-flecha *Centropomus undecimalis*, mantidos em cativeiro**. In: AQUACIENCIA 2006, Bento Gonçalves. Anais. Bento Gonçalves: Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática, 2006. CD-ROM.

STONE, D.; TOSTIN, N. Clove bud oil a big yawn for silver perch. **Fish. NSW Magazine Spring**, v. 19, 1999.

TAVARES-DIAS, M. **Estresse em peixes cultivados: agravantes e atenuantes para o manejo rentável**. Embrapa Amapá, Macapá. p.22. 2009.

TAYLOR, P. W.; ROBERTS, S. D. Clove oil: Na alternative anaesthetic for aquaculture. **North American Journal of Aquaculture**, v. 61, p.150-155. 1999.

TORT, L.; et al. Cortisol and haematological response in sea bream and trout subjected to the anesthetics clove oil and 2-phenoxyethanol. **Aquaculture Research**, Oxford, v. 33, p. 907-910, 2002.

VAL, A. L.; VAL-ALMEIDA, V. M. F. **Fishes of the Amazon and their environment; physiological and biochemical aspects**. Springer: Heidelberg, p. 224. 1995.

VIDAL, L. O.; et al. Eugenol como anestésico de tilápia-do-nilo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, n. 8, p. 1069-1074. 2008.

VIDAL, L. O.; et al. Utilização do Eugenol como anestésico para o manejo de juvenis de pintado *Pseudoplatystoma corruscans*. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, Maringá, v. 28, n. 3, p. 275-279. 2006.

WAGNER, E.; ARNDT, R.; HILTON, B. Physiological stress responses, egg survival and sperm motility for rainbow trout broodstock anaesthetized with clove oil, tricaine methanesulfonate or carbono dioxide. **Aquaculture**, v. 211, p. 353-366. 2002.

WAGNER, G. N.; SINGER, T. D.; MCKINLEY, R. S. . The ability of clove oil and MS222 to minimize handling stress in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum). **Aquaculture Research**, Oxford, v. 34, p. 1139-1146. 2003.

8 APÊNDICE

APÊNDICE 1 – Planilha utilizada na avaliação do comportamento de indução e recuperação anestésica dos peixes a dosagem de 26,5 mg. L⁻¹ e temperatura de 27°C.

Quantidade de água (litros): _____ Diluição em eugenol:alcool (mg.L⁻¹): 26,5 Temperatura: 27°C Data: ____/____/2014

Peixe	Indução			Recuperação						Peso do Peixe
	Sedação leve (Perda de reação a movimentos visuais e ao toque)	Anestesia leve (Perda parcial do equilíbrio). <u>Começa a ficar na vertical – tombando.</u>	Anestesia profunda (Perda total do equilíbrio). <u>Deita no fundo do aquário</u>	Entrada no tanque limpo	Reaparecimento dos movimentos operculares. <u>Opérculo abrindo e fechando</u>	Retorno parcial do equilíbrio e da capacidade de nado. <u>Começa a ficar na vertical – levantando.</u>	Recuperação total do equilíbrio. <u>Posição vertical no aquário.</u>	Nado e reação para estímulos externos ainda vacilantes. <u>Começa a nadar no aquário.</u>	Total recuperação do equilíbrio e nado normal.	
1										
2										
3										
4										
5										

APÊNDICE 2 – Planilha utilizada na avaliação do comportamento de indução e recuperação anestésica dos peixes a dosagem de 26,5 mg. L⁻¹ e temperatura de 31°C.

Quantidade de água (litros): _____ Diluição em eugenol:alcool (mg.L⁻¹): 26,5 Temperatura: 31°C Data: ____/____/2014

Peixe	Indução			Recuperação						Peso do Peixe
	Sedação leve (Perda de reação a movimentos visuais e ao toque)	Anestesia leve (Perda parcial do equilíbrio). <u>Começa a ficar na vertical – tombando.</u>	Anestesia profunda (Perda total do equilíbrio). <u>Deita no fundo do aquário</u>	Entrada no tanque limpo	Reaparecimento dos movimentos operculares. <u>Opérculo abrindo e fechando</u>	Retorno parcial do equilíbrio e da capacidade de nado. <u>Começa a ficar na vertical – levantando.</u>	Recuperação total do equilíbrio. <u>Posição vertical no aquário.</u>	Nado e reação para estímulos externos ainda vacilantes. <u>Começa a nadar no aquário.</u>	Total recuperação do equilíbrio e nado normal.	
1										
2										
3										
4										
5										

APÊNDICE 3 – Planilha utilizada na avaliação do comportamento de indução e recuperação anestésica dos peixes a dosagem de 53,0 mg. L⁻¹ e temperatura de 27°C.

Quantidade de água (litros): _____ Diluição em eugenol:alcool (mg.L⁻¹): 53,0 Temperatura: 27°C Data: ____/____/2014

Peixe	Indução			Recuperação						Peso do Peixe
	Sedação leve (Perda de reação a movimentos visuais e ao toque)	Anestesia leve (Perda parcial do equilíbrio). <u>Começa a ficar na vertical – tombando.</u>	Anestesia profunda (Perda total do equilíbrio). <u>Deita no fundo do aquário</u>	Entrada no tanque limpo	Reaparecimento dos movimentos operculares. <u>Opérculo abrindo e fechando</u>	Retorno parcial do equilíbrio e da capacidade de nado. <u>Começa a ficar na vertical – levantando.</u>	Recuperação total do equilíbrio. <u>Posição vertical no aquário.</u>	Nado e reação para estímulos externos ainda vacilantes. <u>Começa a nadar no aquário.</u>	Total recuperação do equilíbrio e nado normal.	
1										
2										
3										
4										
5										

APÊNDICE 4 – Planilha utilizada na avaliação do comportamento de indução e recuperação anestésica dos peixes a dosagem de 53,0 mg. L⁻¹ e temperatura de 31°C.

Quantidade de água (litros): _____ Diluição em eugenol:alcool (mg.L⁻¹): 53,0 Temperatura: 31°C Data: ____/____/2014

Peixe	Indução			Recuperação						Peso do Peixe
	Sedação leve (Perda de reação a movimentos visuais e ao toque)	Anestesia leve (Perda parcial do equilíbrio). <u>Começa a ficar na vertical – tombando.</u>	Anestesia profunda (Perda total do equilíbrio). <u>Deita no fundo do aquário</u>	Entrada no tanque limpo	Reaparecimento dos movimentos operculares. <u>Opérculo abrindo e fechando</u>	Retorno parcial do equilíbrio e da capacidade de nado. <u>Começa a ficar na vertical – levantando.</u>	Recuperação total do equilíbrio. <u>Posição vertical no aquário.</u>	Nado e reação para estímulos externos ainda vacilantes. <u>Começa a nadar no aquário.</u>	Total recuperação do equilíbrio e nado normal.	
1										
2										
3										
4										
5										